Aus der Chirurgischen Klinik der Universität Bern

Leitung: Prof. Dr. med. K. Lenggenhager

UEBER DIE BESTIMMUNG DER RELATIVEN AFFINITAET DES TETANUSTOXINS ZUM GEHIRNBREI UND ANTITOXIN

INAUGURAL-DISSERTATION

zur

Erlangung der Doktorwürde

der Medizinischen Fakultät

der Universität Bern

vorgelegt von

Fred Lieberman

von Buffalo, New York USA

ARNAUD DRUCK BERN 1956

Aus der Chirurgischen Klinik der Universität Bern

Leitung: Prof. Dr. med. K. Lenggenhager

UEBER DIE BESTIMMUNG DER RELATIVEN AFFINITAET DES TETANUSTOXINS ZUM GEHIRNBREI UND ANTITOXIN

INAUGURAL-DISSERTATION

zur
Erlangung der Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät
der Universität Bern

vorgelegt von

Fred Lieberman

von Buffalo, New York USA

ARNAUD DRUCK BERN 1956

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Von der Medizinischen Fakultät auf Antrag des Herrn Prof. Dr. Lenggenhager zum Druck als Dissertation genehmigt.

Bern, den 17. Dezember 1955.

Der Dekan der Medizinischen Fakultät:
Prof. Dr. W. Wilbrandt

MEINEN LIEBEN ELTERN

EINLEITUNG

Es wurde mir die Aufgabe gestellt im Laboratoriumsversuch zu untersuchen, ob die Affinität des Tetanustoxins zum Tetanusantitoxin grösser oder kleiner ist als zum Gehirn.

Wäre die Affinität des Toxins zum Antitoxin grösser als zum Gehirngrau, so würden spätere Versuche, die Blut-Liquor Schranke für das Tetanusantiserum durchlässig zu machen, sich lohnen, um schon verankertes Toxin aus dem Gehirn zu lösen.

ALLGEMEINES UEBER TETANUS

Es ist bekannt, dass ein mit tödlicher Dosis von Tetanustoxin geimpftes Tier selbst mit grössten Dosen von Antitoxin nicht mehr gerettet werden kann, wenn das Toxin bereits eine Zeitlang im Z.N.S. verankert ist. Bemerkenswert ist die Arbeit von Meyer und Ransom (1). Diese Autoren wiesen schon am Anfang dieses Jahrhunderts nach, dass das Tetanustoxin von den Zellen des Zentralnervensystems gebunden wird und mit höchsten Dosen Antitoxin nicht mehr befreit werden kann. Seither zeigten zahllose Versuche, dass offenbar eine Heilung durch Antitoxin in einem kleinen Prozentsatz der Fälle möglich ist. Die Prognose hängt von der Dauer der Inkubationszeit ab und von der Quantität des ins Gehirn eingedrungenen Toxins. Auch nach Untersuchungen unserer Klinik gelingt es tatsächlich bei Meerschweinchen, Mäusen und Kaninchen, diese kurz nach Ausbruch der ersten Tetanussymptome durch Injektion von Antiserum zu retten. Allerdings konnten auch wir durch ca. 6 Stunden nach Symptomenausbruch verabfolgtes Antiserum die Tiere vor einer 2-fach tödlichen Toxindosis nicht mehr retten. Es vermag also offenbar das zu spät verabreichte Antitoxin dem Toxin in das Zentralnervensystem nicht zu folgen. Es ist auch allgemein bekannt, dass ein manifester Tetanus beim Menschen nur in ca. 50 % der Fälle heilbar ist, indem es eben nicht gelingt, schon verankertes Tetanustoxin durch Antitoxin vom Z.N.S. zu lösen.

Um die Heilungsaussichten zu verbessern wurden zahlreiche Versuche angestellt, manche mit anscheinend günstigen Resultaten. Robineau (2) berichtete, dass er von 20 Fällen von fortgeschrittenem Tetanus beim Menschen 19 heilen konnte, indem er Tetanusantiserum intralumbal injizierte. Aehnliche Resultate wurden auch von Kocher (3), Ravina (4), Craglietto (5) und Nabarro (6) erhalten. Diese Resultate konnten aber seither nicht bestätigt werden.

Das Verfahren der intrazerebralen Antitoxininjektion hat sich nach der Veröffentlichung von Doyen (7) beim Menschen nicht wirksam erwiesen, indem ein letaler Ausgang des Tetanus nicht vermieden werden konnte.

Um das Antitoxin dem Gehirn in einer konzentrierteren Weise zugängig zu machen, injizierten Lehmann (8), Gödecke (9), und Heddäus (10) bei insgesamt 17 Menschen Antiserum in die A. carotis ext. mit recht guten Resultaten. Ob wir in diesen Heilungsfällen von einer Lösung des Toxins aus dem Gehirn durch das Antitoxin sprechen können, oder ob es sich einfach um ein Abfangen des sich im Blute vorfindenden Toxin handelt, ist unersichtlich.

Es soll hier auf die Versuche von Wassermann und Takaki (11) hingewiesen werden, die als die Ersten die Affinität zwischen Gehirnbrei und Tetanustoxin beschrieben. D'Antona und Valensin (12) fanden eine grosse Affinität zwischen Tetanusanatoxin und Gehirnbrei. Diese Autoren behaupten, dass die Verbindung zwischen dem Toxin und Gehirn und die Verbindung zwischen Toxin-Antitoxin dieselbe wäre aber nicht in gleicher Stärke. Es wurde aber nicht erwähnt, welche von den Beiden (Gehirn oder Antitoxin) die stärkere Affinität zum Toxin habe. Nach d'Antona und Valensin ist es auch möglich, gebundenes Toxin vom Gehirn mit physikalischen und chemischen Massnahmen zu befreien. Die Verbindung Gehirn-Toxin ist nach diesen Autoren nicht eine feste, sondern eine adsorptive. Wolff-Eisner (13) bestritt schon vorher die Theorie von Wassermann, dass es im Gehirn präformierte Antikörper gegen das Tetanustoxin gäbe, welche das Toxin zur Neutralisation bringen könnten. Er war der Meinung, dass das Toxin in zwei Formen am Gehirn gebunden wird, einer festen, der chemischen Färbung vergleichbar, und einer lockeren Bindung, welche der physikalischen Färbung nahe steht. Gestützt auf die Darlegungen dieser Autoren sollte es theoretisch jedenfalls möglich sein, das gebundene Toxin mit einer genügenden Menge Antitoxin vom Gehirnbrei zu lösen.

Der Versuch der Ermittlung der Affinität zwischen dem Gehirn und Antitoxin, gegenüber dem Toxin ist unseres Wissens weder in vitro noch in vivo geprüft worden. Diese Arbeit soll ein Beitrag zur Abklärung der Frage geben, ob die Möglichkeit der Lösung von Gehirn-verankertem Toxin durch Antitoxin im Reagensglasversuch überhaupt besteht.

VERSUCHE UND RESULTATE

I. ALLGEMEINE BEMERKUNGEN

Zur Ausführung der Versuche wurde folgendes Material verwendet:

1. Tetanustoxinlösung hergestellt durch Auflösung von Standard Tetanustrockensubstanz vom Seruminstitut Bern in Tetanuspufferlösung. Diese Lösung enthielt 0,15γ Toxin pro 0,5 cc., welches einer doppelt tödlichen Dosis pro 100 g Körpergewicht für Meerschweinchen entspricht. (14)

2. Tetanusantiserumlösungen, hergestellt durch Verdünnung von Tetanusantiserum vom Pferd 500 I.E./cc. vom Seruminstitut Bern.

3. Junge männliche und weibliche Meerschweinchen von ca. 300 g Körpergewicht.

II. VORVERSUCHE

Bestimmung des Neutralisationsvermögens des Tetanusantiserum gegenüber dem Tetanustoxin.

Um die Bindungsfähigkeit des Tetanusantiserums gegenüber dem Tetanustoxin zu bestimmen, wurde die 3-fach tödliche Dosis der Tetanustoxinlösung mit einer Verdünnungsreihe Tetanustoxin in der Proportion von 0,75 cc. Toxinlösung zu 0,17 cc. Antiserumlösung pro 100 g K.G. gemischt. Als Ausgangspunkt wurde 0,5 cc. Antiserumlösung pro 300 g K.G. gewählt. Von diesem Gemisch wurde dann 0,92 cc./100 g K.G. den Versuchstieren subcutan in den hinteren Oberschenkel injiziert. Als ideale Neutralisation von Toxin-Antitoxin wurde diejenige Menge angesehen, welche erst nach 4 Tagen Spuren von Tetanussymptomen auslöste. Tabelle I erläutert die Resultate.

TABELLE I

Tier Nr.	K.G.	Menge des injizierten Toxin-Antitoxin Gemisches	Verdünnung des Serums	Verlauf *
1	275 g	2,53 cc.	1 : 60'000	-
2	295 g	2,71 cc.	1 : 60'000	-
3	295 g	2,71 cc.	1 : 60'000	-
4	300 g	2,76 cc.	1 : 70'000	-
5	335 g	3,08 cc.	1 : 70'000	-
6	273 g	2,50 cc.	1 : 70'000	-
7	320 g	2,95 cc.	1 : 80'000	-
8	320 g	3,04 cc.	1 : 80'000	-
9	265 g	2,44 cc.	1 : 80'000	Spur
10	345 g	3,17 cc.	1 : 80'000	Spur
11	320 g	3,03 cc.	1 : 80'000	Spur
12	420 g	3,86 cc.	1 : 90'000	-
13	255 g	2,35 cc.	1 : 90'000	(+)
14	325 g	3,00 cc.	1 : 90'000	(+)
15	270 g	2,48 cc.	1 : 90'000	(+)
16	315 g	2,90 cc.	1 : 90'000	(+)
17	280 g	2,56 cc.	1 : 90'000	-
18	310 g	2,85 cc.	1 : 90'000	(+)

Tier Nr.	K.G.	Menge des injizierten Toxin-Antitoxin Gemisches	Verdünnung des Serums	Verlauf *
19	355 g	2,27 cc.	1 : 90'000	-
20	295 g	2,71 cc.	1 : 90'000	(+)
21	360 g	3,32 cc.	1 : 100'000	+
22	280 g	2,58 cc.	1 : 100'000	+
23	235 g	2,16 cc.	1 : 100'000	+
24	275 g	2,54 cc.	1 : 100'000	(+)
25	675 g	6,20 cc.	1 : 100'000	-
26	340 g	3,12 cc.	1 : 120'000	+
27	295 g	2,70 cc.	1 : 120'000	+
28	300 g	2,75 cc.	1 : 120'000	+
29	240 g	2,20 cc.	1 : 120'000	+
30	285 g	2,62 cc.	1 : 130'000	+
31	485 g	4,36 cc.	1 : 300'000	+
32	620 g	5,70 cc.	1 : 300'000	+
33	225 g	2,06 cc.	1 : 600'000	+
34	464 g	4,26 cc.	1 : 600'000	+
35	740 g	6,80 cc.	1 : 600'000	-
36	300 g	2,75 cc.	1 : 900'000	+
37	500 g	4,60 cc.	1 : 900'000	+
38	615 g	5,62 cc.	1 : 900'000	+

3-fach tödliche Toxindosen und entsprechende Mengen Antiserum

* - = kein Tetanus

(+) = leichter Tetanus

\+ = stark ausgebildeter Tetanus

Nach den ersten Versuchsergebnissen (siehe Tabelle V) wurde es als notwendig erachtet, weitere Versuche mit 10 und 100-fach stärkeren Dosen des Toxins und Antiserums zu machen. (Genaue Erklärung siehe unter Diskussion).

Für die 10-fach tödliche Dosis wurde eine Toxinlösung hergestellt, in welcher 0,75γ/0,5 cc. enthalten waren, sodass 0,5 cc./100 g K.G. einer 10-fach tödlichen Dosis entsprach. Die hinzugefügte Antiserumlösung wurde als 0,565 cc./100 g K.G. berechnet. Von diesem Gemisch wurde 1,065 cc./100 K.G. injiziert.

TABELLE II

Tier Nr.	K.G.	Menge des injizierten Gemisches	Verdünnung des Serums	Verlauf
1	285 g	3,04 cc.	1 : 100'000	-
2	290 g	3,08 cc.	1 : 100'000	Spur
3	220 g	2,34 cc.	1 : 100'000	Spur
4	290 g	3,08 cc.	1 : 120'000	Spur
5	250 g	2,66 cc.	1 : 120'000	(+)
6	240 g	2,57 cc.	1 : 120'000	(+)
7	295 g	3,14 cc.	1 : 140'000	+
8	325 g	3,46 cc.	1 : 140'000	+

10-fach tödliche Toxindosen und entsprechende Menge Antiserum

TABELLE III

Tier Nr.	K.G.	Menge des injizierten Gemisches	Serum, entsprechend einer Verdünnung von	Verlauf
1	270 g	2,88 cc.	1 : 80'000	-
2	283 g	3,00 cc.	1 : 80'000	-
3	310 g	3,30 cc.	1 : 80'000	-
4	300 g	3,20 cc.	1 : 80'000	-
5	270 g	2,88 cc.	1 : 100'000	-
6	330 g	3,51 cc.	1 : 100'000	-
7	305 g	3,25 cc.	1 : 100'000	-
8	315 g	3,35 cc.	1 : 100'000	-
9	270 g	2,88 cc.	1 : 120'000	-
10	290 g	3,08 cc.	1 : 120'000	-
11	290 g	3,08 cc.	1 : 120'000	-
12	282 g	3,00 cc.	1 : 120'000	-
13	270 g	2,88 cc.	1 : 120'000	-
14	280 g	3,00 cc.	1 : 120'000	-
15	275 g	2,93 cc.	1 : 120'000	-
16	240 g	2,56 cc.	1 : 140'000	-
17	270 g	2,88 cc.	1 : 140'000	-
18	240 g	2,57 cc.	1 : 140'000	-
19	285 g	3,04 cc.	1 : 160'000	-
20	295 g	3,14 cc.	1 + 160'000	-

100-fach tödliche Toxindosen und entsprechende Menge Antiserum.

Ergebnis

Aus den Resultaten der Vorversuche ist ersichtlich, dass eine Verdünnung des Antiserums von 1 : 80'000 diejenige ist, welche in kleinen Mengen (3-10 tödl. Toxindosen) Spuren von Tetanuserscheinungen beim Mischversuch mit Tetanustoxin hervorrufen lassen. Diese Verdünnung wurde dann im Hauptversuch benutzt.

Hauptversuche

A. Die Technik der Versuche war die folgende:

Meerschweinchen wurden mit Aether getötet und das Gehirn entfernt. Die gewonnene Gehirnsubstanz wurde mit Wasser gewaschen, um das Blut zu entfernen (nachher mit Gaze möglichst getrocknet), und in einem Mörser fein verrieben. Zu diesem Gehirnbrei wurden dann 6 tödliche Dosen Toxin pro Gramm zugegeben und 5 Minuten stehen gelassen. Nach dieser Kontaktzeit wurde dieses Gemisch mit einer 1 : 80'000 verdünnten Lösung des Antiserums versetzt, entsprechend der Menge des vorher zugegebenen Toxins. Der feste Gehirnbrei wurde dann abzentrifugiert, und die darüberstehende Flüssigkeit abpipetiert und nochmals gemessen, da ein Teil der vorher zum Gehirnbrei zugefügten Flüssigkeit beim Zentrifugieren verloren geht. Es wurde dann so viel Toxin entsprechend der 2-fach bis 3-fach tödlichen Dosis zugegeben. (Siehe Tabelle IV) Dieses Präparat wurde dann subcutan in die Oberschenkel von Meerschweinchen injiziert und Tetanuserscheinungen abgewartet.

Von den Resultaten dieses Versuches ist es ersichtlich, dass die relative Affinität des Toxins zum Antitoxin grösser ist als zum Gehirnbrei, wobei also die Möglichkeit, gebundenes Toxin von Gehirnbrei, unter den gegebenen Versuchsbedingungen mit der vorher bestimmten Menge Antitoxin zu befreien, besteht.

TABELLE IV

Tier Nr.	Zahl d. tödl. Toxindosen zum Gehirnbrei	Zahl der Antitoxindosen zum Gehirnbrei 1 : 80'000	Zahl d. tödl. Toxindosen nach Zentrifugieren	Verlauf
1	2	2	2	+
2	2	2	2	+
3	2	2	2	(+)
4	2	2	2	(+)
5	2	2	2	(+)
6	2	2	2	(+)
7	2	2	2	(+)
8	2	2	2	+
9	2	2	2	-
10	2	2	2	+
11	2	2	2	-
12	2	2	2	+

Tier Nr.	Zahl d. tödl. Toxindosen zum Gehirnbrei	Zahl der Antitoxindosen zum Gehirnbrei 1 : 80'000	Zahl d. tödl. Toxindosen nach Zentrifugieren	Verlauf
13	3	3	2	-
14	3	3	2	-
15	3	3	2	(+)
16	3	3	3	-
17	3	3	3	+
18	3	3	3	+
19	3	3	3	(+)
20	5	5	2	-
21	5	5	2	-
22	5	5	2	-
23	5	5	2	-
24	5	5	2	-
25	5	5	2	(+)
26	5	5	2	(+)
27	5	5	2	+
28	5	5	2	+
29	5	5	2 1/2	+
30	5	5	2 1/2	+
31	5	5	2 1/2	(+)
32	5	5	2 1/2	(+)
33	5	5	2 1/2	-
34	5	5	2 1/2	(+)
35	5	5	3	(+)
36	5	5	3	(+)
37	5	5	3	-
38	5	5	3	(+)
39	5	5	3	+
40	5	5	3	+
41	5	5	3	+
42	10	10	2	-
43	10	10	2	-
44	10	10	2	-
45	-	-	2	+
46	-	-	2	+
47	-	-	2	+
48	-	-	3	+
49	-	-	3	+
50	-	2	2	-
51	-	2	2	-
52	-	2	2	-
53	-	10	10	-
54	-	10	10	-
55	-	10	10	-

Tabelle IV zeigt den Verlauf der Hauptversuche:

1. Tiere Nr. 1-44 Prüfung auf reversible Toxinbindungsfähigkeit des Gehirnbreies (siehe unter A).

2. Tiere Nr. 45-49 mit der Gehirnspülflüssigkeit (siehe unter B).

3. Tiere 50-55 Prüfung der Antitoxinbindungsfähigkeit an Gehirnbrei (siehe unter C).

B. Ferner wurde untersucht, ob das Gehirn eine Verankerung des Antitoxins zeige. Um dieses Phänomen zu untersuchen, wurde eine bestimmte Menge Antitoxin mit Gehirnbrei verrieben, der Gehirnbrei abzentrifugiert, und die darüberstehende Flüssigkeit mit einer aequivalenten Menge Toxin versetzt. Dieses Gemisch wurde dann Meerschweinchen in der üblichen Weise injiziert (Tabelle IV).

Es zeigte sich, dass das Antitoxin am Gehirnbrei nicht fest gebunden wird, jedenfalls nicht in den Konzentrationen, die hier angewendet worden waren. Es bleibt also noch eine genügende Menge Antitoxin nach Wegnahme des Gehirnbreis übrig, um eine entsprechende Menge Toxin zu binden.

C. Es wurde auch geprüft, ob in der überstehenden Flüssigkeit eines mit Tetanuspufferlösung versetzten Gehirnbreigemisches lipoidartige Substanzen vorhanden wären, welche eventuell Tetanustoxin binden könnten. Für diese Untersuchung wurde Gehirnbrei mit Tetanuspufferlösung versetzt und der feste Gehirnbrei abzentrifugiert. Zu Portionen der erhaltenen Flüssigkeit wurden die 2-fach und 3-fach tödliche Dosis Tetanustoxin zugegeben und Meerschweinchen damit injiziert (Tabelle IV).

Die Resultate des Versuches weisen darauf hin, dass offenbar keine toxinbindungsfähige Substanzen in einer solchen überstehenden Flüssigkeit vorhanden sind, denn sie würden das Toxin unschädlich machen, oder schwächen.

TABELLE V

(Uebersichtstabelle)

5 Min. später { Gehirnbrei + Toxin + Antitoxin	Toxinzugabe nach Zentrifugieren			Gehirnbrei + Antitoxin Nach Zentrifugieren + Toxin	Gehirnbrei + Pufferl. Nach Zentrifugieren + Toxin
	+ 2 tödl. Dosen Toxin	+ 2½ tödl. Dosen Toxin	+ 3 tödl. Dosen Toxin		
2-fach	(+)(+)(+)(+) (+) + + + + - -			- - -	+ + +
3-fach	- - - (+)		+ + + (+)		+ +
5-fach	- - - - (+)(+) + +	+ + + (+)(+) (+) -	+ + + (+) (+)(+) -		
10-fach	- - -			- - -	

DISKUSSION

A Der Vorversuch diente zur Wertbestimmung des Antiserums nach der Methode, die in Deutschland zur staatlichen Serumprüfung angewandt wird. Nach dem Phänomen von Danysz (10) neutralisieren sich aequivalente Mengen von Antitoxin und Toxin nur dann vollständig, wenn die ganzen Mengen der Beiden auf einmal gemischt werden. Wenn aber das Toxin dem Antitoxin in Fraktionen in Intervallen zugegeben wird, bleibt das Gemisch toxisch. In unsern Versuchen wurde das Neutralisationsvermögen des betreffenden Antiserums geprüft, indem die verschiedenen Mengen von Toxin und Antitoxin auf einmal gemischt wurden. Aequivalente Mengen von Toxin und Antitoxin sollten sich erfahrungsgemäss neutralisieren. Ein Ueberschuss von Toxin würde Tetanussymptome im Versuchstier hervorrufen.

Die Verdünnung des Antiserums von 1 : 80'000 wurde als die neutralisierende Menge für den Hauptversuch angenommen, da es mit dieser Menge Antitoxin möglich war, die Versuchstiere vor einer 3-fach tödlichen Dosis Toxin zu schützen. Es ist aber so, dass es sich nicht um eine absolut ideale Neutralisation handeln kann, da nämlich jene Konzentration des Antiserums verwendet werden muss, bei der tatsächlich alle Tiere überleben. Bei der nächst höheren Verdünnungsstufe können bei einer Versuchsreihe von 10 Tieren vielleicht schon die Hälfte spurweise Tetanus zeigen. So muss zwangsläufig bei der gewählten Neutralisation ein kleiner Ueberschuss von Antiserum entstehen, und dies konnte auch tatsächlich in den Versuchen mit 10 - 100-facher Konzentration bestätigt werden.

Tabellen I, II und III zeigen diese Versuche:

Es waren bei
3-fach tödlicher Dosis Toxin-Antiserum 1 : 80'000

Es waren bei
10-fach tödlicher Dosis Toxin-Antiserum 1 : 100'000

Es waren bei
100-fach tödlicher Dosis Toxin-Antiserum 1 : 160'000

} zur idealen Neutralisation des Toxins nötig.

Eine völlig ideale Neutralisation ist biologisch wegen individuellen Differenzen nicht möglich.

B. Die Ueberlegung im Hauptversuch war die folgende:

Wenn man Toxin mit Gehirnbrei vermischt, dann soll es nach Wassermann und Takaki (11) bis 10 tödliche Mauseeinheiten pro cc binden. Wenn man jetzt aber eine entsprechende Menge Antitoxin hinzufügt, dann könnten sich folgende Dinge abspielen:

1. Das Antitoxin könnte das Toxin vollkommen aus dem Gehirnbrei herauslösen und würde dann selber vom Toxin neutralisiert, mit dem Resultat, dass es kein weiteres Toxin mehr binden kann. Tabelle IV und V demonstrieren, dass eine Antitoxinmenge entsprechend einer 2-fach tödlichen Toxinmenge verbraucht worden war, sodass nach Wegnahme des Gehirnbreies kein genügendes Antitoxin in der überstehenden Flüssigkeit war, um die Tiere vor einer zusätzlichen 2-fachen Toxindosis zu schützen. Wenn man die Resultate der Versuche mit höheren Dosen Toxin und Antitoxin betrachtet, scheint es als ob noch freies Antitoxin in der überstehenden Flüssigkeit vorhanden wäre, und in dieser Weise eine Bindung der zusätzlichen 2-fach tödlichen Toxinmenge verursacht. Tatsächlich ist eine Spur von Ueberschuss von Antitoxin in der überstehenden Flüssigkeit vorhanden, da, wie im Vorversuch gezeigt wurde, keine ideale Neutralisation des Toxins durch eine 1 : 80'000 verdünnte Antiserumlösung zustande kam. Der Ueberschuss an Antitoxin wird umso grösser, je mehr Toxin und Antitoxin dem Gehirnbrei angeboten wird.

Tabelle V zeigt z.B., dass, wenn man eine 5-fache Dosis Toxin mit Gehirnbrei mischt und dann eine 5-fach entsprechende Antiserummenge (1 : 80'000) hinzufügt, der Ueberschuss an Antitoxin sich darin zeigt, dass noch genügend Antitoxin in der überstehenden Flüssigkeit vorhanden war, um ca. 50 % der Tiere vor einer 2-fachen Toxindosis zu schützen.

Wenn aber eine 2½ und 3-fache Dosis Toxin zugegeben wurde, war nicht genug Ueberschuss Antitoxin mehr vorhanden, und Tetanuserscheinungen wurden beobachtet. Bei dem 10-fachen Toxin-Antitoxin-Gehirnbreigemisch war der Ueberschuss bereits so gross, dass es eine 2-fache Dosis Toxin ausnahmslos binden konnte.

2. Das Antitoxin könnte vom Gehirnbrei auch gebunden, und in dieser Weise unwirksam gemacht werden. Dagegen sprechen die Versuche mit den Tieren Nr. 50-55 (Tabelle IV), indem in der überstehenden Flüssigkeit nach der Zentrifugierung des Gehirnbrei-Antiserumgemisches noch genügend Antitoxin vorhanden war, um eine 2-fach bzw. 10-fach tödliche Dosis Toxin zu binden.

Es wäre auch theoretisch möglich, dass bei der Mischung des Gehirnbreis mit den Toxin und Antiserumlösungen toxinbildende Substanzen (lipoide?) im Zentrifugat mitgenommen wurden. Diese Ueberlegung wurde aber widerlegt, indem es sich zeigte, dass nach einer Zugabe von 2-3 tödlichen Dosen Toxin zu der überstehenden Flüssigkeit einer Gehirnbrei-Tetanuspuffermischung das Gemisch noch tödlich ist.

ZUSAMMENFASSUNG

Zunächst wurde eine Wertbestimmung des Tetanusantiserums vorgenommen, indem verschiedene Verdünnungslösungen des Antiserums, gemischt mit konstanten Mengen Tetanustoxins, einer Reihe von Meerschweinchen injiziert wurden. Als brauchbare Verdünnung wurde eine 1 : 80'000 gefunden.

Weitere Versuche bezweckten das Problem der relativen Affinität des Tetanustoxins zum Gehirn und Tetanusantitoxin zu lösen. Es konnte gezeigt werden, dass an Gehirngrau verankertes Tetanustoxin im Reagensglasversuch durch Antitoxin wiederum dem Gehirn entrissen werden kann unter gleichzeitiger Schwächung des Antitoxins. Damit hat es einen Sinn, weiterhin nach Methoden zu suchen, welche die Diffusion des im Blute kreisenden Antitoxins ins Zentralnervensystem hinein ermöglichen zur Neutralisierung des bereits verankerten Tetanustoxins.

Meinen besten Dank an Herrn Prof. Dr. med. K. Lenggenhager für das Thema meiner Dissertation. Gleichzeitig danke ich auch Herrn P.D. Dr. R. Regamey für seine Ratschläge während meiner Arbeit.

Meinen besonderen Dank möchte ich Frau Dr. L. Büchler aussprechen für ihre selbstlose Hilfe und Mühe.

LITERATUR

1. Meyer, H. und Ransom, F.: Arch. f. exp. Pharmakol. und Pathol., 49, 369, (1903)
2. Robineau, M.: Bull. et mém. Soc. nat. de chir., Par., 51, 854, (1925)
3. Kocher, T.: D. m. W., 46, 1953, (1914)
4. Ravina, A.: Bull. et mém. Soc. méd. d. hôp. de Par., 50, 1103, (1926)
5. Craglietto, V.: Arch. ital. di chir., Bologna, 3, 313, (1921)
6. Nabarro, D.: Lancet, 1, 450, (1932)
7. Doyen: Compt. rend. Soc. de biol. Par., 77, 504, (1914)
8. Lehmann, W.: 26. Tagung nordwestdeutscher Chirurgen, (Juni 1923)
9. Gödecke, R.: Zentralbl. f. Chir., 55, 1027, (1928)
10. Heddäus, A.: Zentralbl. f. Chir., 55, 2826, (1928)
11. Wasserman, A. und Takaki, T.: Berl. Klin. Wochenschrift, 35, 5, (1898)
12. D'Antona, D. und Valensin, M.: Pathologica, 26, 814, (1934)
13. Wolff-Eisner, A.: Klin. Wochenschrift, Berlin, 47, 2207, (1926)
14. Rentsch, M.: Dissertation, Bern, (1955)
15. Danysz, J.: Ann. Inst. Pasteur, 13, 156, (1899)